

# Ocena wartości diagnostycznej oznaczania wskaźnika MoM PSV MCA w przewidywaniu niedokrwistości u płodu w konflikcie serologicznym

Estimation of diagnostic value of the middle cerebral artery peak systolic velocity in prediction of fetal anemia in pregnancies complicated by alloimmunisation

Engel Karina<sup>1</sup>, Kwiatek Monika<sup>1</sup>, Kłosowska Magdalena<sup>1</sup>, Bilar Marek<sup>1</sup>, Konefał Halina<sup>2</sup>, Orzińska Agnieszka<sup>3</sup>, Ronin-Walknowska Elżbieta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii PAM w Szczecinie

<sup>2</sup> Klinika Neonatologii PAM w Szczecinie

<sup>3</sup> Pracownia Biologii Molekularnej, Instytut Immunologii i Transfuzjologii w Warszawie

## Streszczenie

Wykorzystanie badania dopplerowskiego wartości przepływów w tętnicy środkowej mózgu z oceną maksymalnej prędkości skurczowej (PSV) pozwala na wiarygodną pośrednią ocenę stopnia niedokrwistości płodu oraz selekcję ciężarnych wymagających przeprowadzenia procedur inwazyjnych.

**Cel pracy:** Celem pracy jest ocena wartości diagnostycznej oznaczania wielokrotności mediany przepływów w tętnicy środkowej mózgu (MoM PSV MCA) w przewidywaniu niedokrwistości u płodu w ciążyach powikłanych konfliktem serologicznym.

**Materiał i metodyka:** Materiał stanowiło 31 ciężarnych z potwierdzoną immunizacją anty Rh D. Uzyskane wyniki własne poddano analizie ROC (AUC) i na jej podstawie wyznaczono wartość MoM=1,215, cechującą się najwyższą czułością i specyficzością. Wartość tę odniesiono do wysokości miana przeciwciał anty Rh D u ciężarnych oraz do stopnia niedokrwistości u noworodków oznaczając czułość, specyficzość, wartość prognostyczną pozytywną i negatywną oraz istotność statystyczną.

**Wnioski:** W diagnostyce niedokrwistości u płodów w konflikcie serologicznym w zakresie czynnika Rh D należy rozważyć przyjęcie niższej wartości (1,215) MoM niż powszechnie przyjęta (1,5).

Słowa kluczowe: **konflikt serologiczny / DNA / MoM PSV MCA /  
/ niedokrwistość płodowa / immunizacja anty Rh – D /**

## Abstract

The use of the middle cerebral artery peak systolic velocity (PSV) for the noninvasive diagnosis of fetal anemia in pregnancies complicated by alloimmunisation has the potential to reduce the number of invasive procedures.

**Objectives:** The study was undertaken to determine the detection of fetal anemia by fetal middle cerebral artery peak systolic velocity (MCA PSV).

**Material and methods:** 31 fetuses with red cell alloimmunisation were evaluated with Doppler ultrasonography. On the basis of ROC (AUC) analysis the cutoff point of MoM=1.215 with the highest sensitivity and specificity was established. We examined the relation between MoM=1.215 and neonatal hemoglobin level and the maternal antibody titre in the indirect antiglobulin test. Sensitivity, specificity, positive and negative value and statistical significance were calculated.

## Adres do korespondencji:

Karina Engel  
Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej PAM w Szczecinie  
71-252 Szczecin, ul. Unii Lubelskiej 1  
tel. 091 4253292  
e-mail: ronin@sci.pam.szczecin.pl

Otrzymano: 10.08.2009  
Zaakceptowano do druku: 20.09.2009

Engel K, et al.

**Conclusions:** Data reported to date suggest that a threshold of 1.215 multiples of the median can be used to better diagnostic of fetal anemia.

Key words: **blood group incompatibility / DNA / MoM PSV MCA / erythroblastosis / fetal / Rh Isoimmunisation /**

## Wstęp

Postęp w zakresie nadzoru nad ciążą powikłaną immunizacją w zakresie czynnika Rh sprawił, iż inwazyjna procedura diagnostyczna jak kordocenteza, wykonywana celem oceny stopnia anemizacji płodu, zastąpiona została z powodzeniem metodami nieinwazyjnymi. Ingerencja inwazyjna jaja płodowego wiąże się niekiedy z koniecznością wcześniejszego zakończenia ciąży na skutek przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, przedwczesnego oddzielenia łożyska, wywołania przedwczesnej czynności skurczowej lub tamponady pępowiny [1, 2]. Podwyższone jest również ryzyko hiperimmunizacji na skutek zwiększonego przecieku płodowego-matczynego.

W przypadku RhD- negatywnej ciężarnej istotna jest wiedza na temat fenotypu D jej płodu, szczególnie w przypadku obecności przeciwciał anti-D. Metody nieinwazyjne nadzoru pozwalają na oznaczenie w osoczu ciężarnej pozakomórkowego wolnego DNA płodowego i wykryciu genu D z układu Rh, którego obecność warunkuje postępującą anemizację płodu u matek Rh D negatywnych [3, 4, 5, 6].

Płodowe wolne DNA jest izolowane i analizowane przy wykorzystaniu metody PCR w czasie rzeczywistym (*Real-time PCR*), które pozwala na wykrycie płodowego DNA z czułością i specyficznością bliską 100% [8]. Uzyskanie wyniku ujemnego pozwala, pomimo obecności, o różnym mianie, alloprzeciwciał anti D z układu Rh, przetrwałych prawdopodobnie z poprzednich ciąż, na odstąpienie od dalszego intensywnego monitorowania stanu płodu [9]. Oznaczenie wolnego DNA płodowego w osoczu ciężarnej jest czułą metodą diagnostyczną, zależną jednak od stopnia przechodzenia DNA przez łożysko. Bardzo niskie stężenie pozakomórkowego DNA w krążeniu ciężarnej stanowi podstawowe ograniczenie rutynowego stosowania metody. Stężenie wolnego DNA w surowicy krwi matki sukcesywnie rośnie z ok. 3,4% do ok. 5% około terminu porodu [10, 11].

Wykorzystanie badania dopplerowskiego wartości przepływów w tętnicy środkowej mózgu z oceną maksymalnej prędkości skurczowej (PSV), opracowane przez Mari i wsp. [12] pozwala na wiarygodną pośrednią ocenę stopnia niedokrwistości płodu oraz selekcję ciężarnych wymagających przeprowadzenia procedur inwazyjnych. U płodów zanemizowanych prędkość przepływu w tętnicy środkowej mózgu wzrasta co koreluje ze stopniem niedokrwistości.

Wartości nieprawidłowe przepływów stanowią wskazanie do przeprowadzenia wewnątrzmacicznej transfuzji dopłodowej.

## Cel pracy

Celem pracy jest ocena wartości diagnostycznej oznaczania wielokrotności mediany przepływów w tętnicy środkowej mózgu (MoM PSV MCA) w przewidywaniu niedokrwistości u płodu w ciążach powikłanych konfliktem serologicznym.

## Materiał i metodyka

Analizie retrospektywnej poddano przebieg 37 ciąż objętych opieką w Klinice Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii w Szczecinie od stycznia 2004 r. do marca 2009 r. z powodu immunizacji w zakresie czynnika Rh, ze stwierdzoną, w pośrednim teście antyglobulinowym, obecnością alloprzeciwciał anti D z układu Rh.

U 15 ciężarnych przeprowadzono, między 13 a 32 tyg. ciąży diagnostykę prenatalną w kierunku obecności we krwi matczynej genu D z układu Rh. Badanie metodą *real time PCR* przeprowadzono w Pracowni Biologii Molekularnej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. U 6 pacjentek stwierdzono obecność płodu Rh D – ujemnego, co pozwoliło na wyłączenie ich z intensywnego monitorowania.

Łącznie 31 ciężarnych (6 pierworódek i 25 wieloródek) poddano seryjnym badaniom USG celem określenia maksymalnej prędkości przepływu krwi (PSV) w tętnicy środkowej mózgu (MCA). Oceniano przepływ krwi na poprzecznym osiowym przekroju mózgowia na poziomie wzgórz, po uwidocznieniu koła tętniczego Willisa. Bramkę dopplerowską ustawiano w początkowym odcinku naczynia przy odejściu od tętnicy szyjnej wewnętrznej. Kąt pomiaru przepływu nie przekraczał 20 stopni. Badanie przeprowadzono przy użyciu aparatu Voluson E8.

Wyniki uzyskane u tych ciężarnych odnoszono do wartości średniej dla wieku ciążowego, wyznaczając wielokrotność mediany; korzystano z programu kalkulacyjnego umieszczonego na stronie [www.perinatology.com](http://www.perinatology.com).

Przy wyborze dalszego postępowania klinicznego kierowano się wartością graniczną dla MoM równą 1,5.

Dla realizacji celu pracy postanowiono, na podstawie wyników własnych, ustalić w teście ROC (AUC) punkt odcięcia dla MoM cechujący się najwyższą czułością i specyficznością, a następnie uzyskaną wartość wykorzystać jako dyskryminującą w odniesieniu do miana przeciwciał u ciężarnych i cech niedokrwistości u noworodka oraz dokonać porównania, ze stosowaną w postępowaniu klinicznym wartością odcięcia MoM=1,5.

Wyznaczoną własną wartość MoM PSV MCA porównano ze stosowaną powszechnie wartością MoM (1,5) przy pomocy tabel 4-polowych określając czułość, specyficzność, wartość prognozytyczną pozytywną i negatywną oraz istotność statystyczną.

Grupę 31 ciężarnych podzielono na dwie podgrupy: 23 ciężarne z mianem przeciwciał anti D $\geq$ 1/8 i 8 ciężarnych z mianem przeciwciał <1/4.

Grupę 31 noworodków podzielono na dwie podgrupy: 5 noworodków z cechami niedokrwistości (wartość hemoglobiny  $\leq$ 12g/dl oraz wartość hematokrytu  $\leq$ 40 % uzyskane w pierwszym badaniu krwi noworodka po porodzie) i 26 noworodków bez niedokrwistości.

Zależności między cechami nominalnymi sprawdzano testem  $\chi^2$ . W przypadku wszystkich testów, za różnicę statystycznie istotną przyjmowano  $p < 0,05$ .

## Wyniki

Jak wynika z tabeli I oraz ryciny 1 uzyskana na podstawie wyników własnych wartość  $AUC = 0,852$  pozwoliła na wyznaczenie wartości wielokrotności mediany dla wartości maksymalnej prędkości przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu płodów w grupie badanej na 1,215, która to posiada zdolność różnicującą grupę noworodków z niedokrwistością i bez niedokrwistości ze 100% czułością i 72% specyficznnością w sposób istotny statystycznie ( $p = 0,014$ ).

W odniesieniu do podwyższonych ( $\geq 1/8$ ) wartości miana przeciwciał anty Rh – D, wyznaczoną w badaniach własnych wartość  $MoM = 1,215$  cechuje, podobna jak dla wartości  $MoM = 1,5$  – wysoka specyficznność (100%), wysoka wartość prognostyczna pozytywna (100%); jednak posiada ona znacznie wyższą czułość i wartość prognostyczną negatywną (odpowiednio 52,1% vs 17,4% i 42,1% vs 29,6%) statystycznie istotną ( $p = 0,02$ ) w porównaniu z wartością  $MoM 1,5$ .

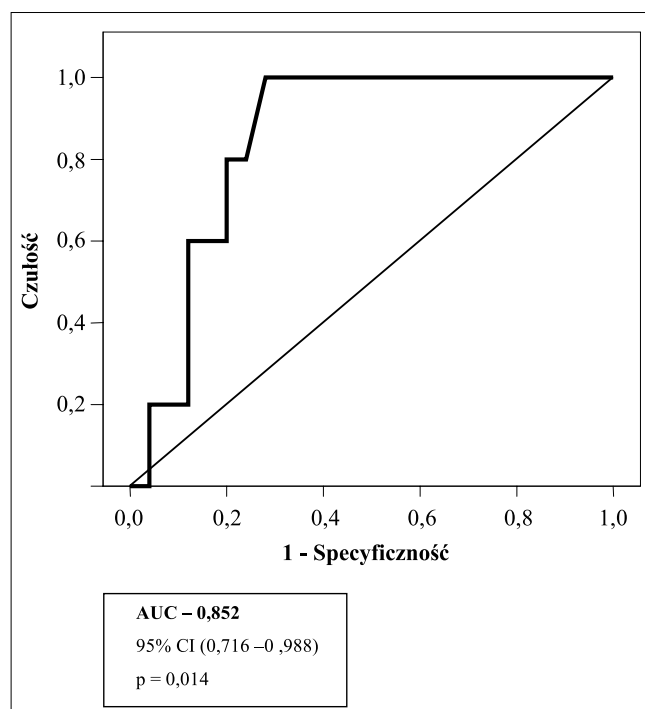
W odniesieniu do stwierdzanej u noworodka niedokrwistości, wyznaczoną w badaniach własnych wartość  $MoM = 1,215$  cechuje wysoka czułość (100%), wysoka wartość prognostyczna negatywna (100%) i wysoka wartość prognostyczna pozytywna w porównaniu do wartości  $MoM = 1,5$  (30,7% vs 14,8%); stwierdza się jednak dla wartości  $MoM = 1,215$  niższą niż dla wartości  $MoM = 1,5$  specyficznność (66,7% vs 88,5%). Uzyskane różnice są statystycznie istotne przy  $p = 0,04$ .

Tabela I. Wyniki testu ROC dla wartości wielokrotności mediany PSV MCA w materiale własnym.

Wartość MoM PSV MCA	Czułość	1 – Specyficznność
1,1750	1,000	0,360
1,1900	1,000	0,320
<b>1,2150</b>	<b>1,000</b>	<b>0,280</b>
1,2400	0,800	0,240
.....	.....	.....
1,4800	0,200	0,120
1,5750	0,200	0,080
1,6400	0,200	0,040
1,7000	0,000	0,040
2,7200	0,000	0,000

## Dyskusja

Postępowanie profilaktyczne w niezgodności małżeńskiej w zakresie czynnika Rh polegające na podawaniu immunoglobuliny sprawiło, iż w ostatnim dziesięcioleciu znacznie zmniejszyła się ilość diagnozowanych przypadków immunizacji antygenem Rh D oraz zmniejszył się stopień ich nasilenia [ 6, 13, 14, 15].



Rycina 1. Wykres krzywej ROC dla wielokrotności mediany (MoM) dla wartości maksymalnej prędkości przepływu krwi (PSV) w tętnicy środkowej mózgu (MCA) płodów w grupie badanej z niedokrwistością i bez niedokrwistości.

Wyróżnia się kilka postaci choroby hemolitycznej płodu i noworodka, która może przebiegać pod postacią niedokrwistości, żółtaczki noworodka oraz obrzęku uogólnionego.

Ultrasonograficzna diagnostyka prenatalna skierowana jest głównie na diagnozowanie zaburzeń hemodynamicznych u płodu oraz przewidywanie stopnia ciężkości niedokrwistości u płodu [16, 17, 18].

Po raz pierwszy opisane przez Vyas i wsp. opracowane przez Mari i wsp. badania przepływów dopplerowskich w tętnicy środkowej mózgu wykorzystane zostały w diagnostyce niedokrwistości u płodu [12, 21]. Mają one zastosowanie w różnych etiologicznie schorzeniach wpływających na występowanie niedokrwistości u płodu, takich jak: parwowiremia płodowa, wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu, zespół przetoczenia pomiędzy płodami, alloimmunizacja w zakresie czynnika Kell, krwawienie płodowo-matczyne, itp. [19, 20, 21].

W konflikcie serologicznym wykonanie kordocentezy diagnostycznej ma miejsce przy przepływach dopplerowskich w tętnicy środkowej mózgu przekraczających 1,5 mediany normy dla wieku ciążowego oraz przy wysokim mianie przeciwciał 1:128. W badaniach przeprowadzonych przez Mari i wsp. specyficznność badania przepływów w MCA wynosiła 88%, co znaczyło, że w 12% przypadków płodów zakwalifikowanych do grupy ryzyka przeprowadzono zabieg kordocentezy diagnostycznej przy braku ciężkiej niedokrwistości [12]. Badania prospektywne Teixeira i wsp. z zastosowaniem monitorowania dopplerowskiego przepływów w MCA w celu przewidywania płodowej niedokrwistości dla  $Ht < 2SD$  przy  $PSV > 1 SD$  wykazały czułość wynoszącą 64%, specyficznność 100% [22]. Czułość badania w przewidywaniu hematokrytu płodowego  $< 3SD$  i  $< 4SD$  wzrosła do 73% i 83% przy stale dobrej specyficznności wynoszącej odpowiednio 93% i 80%.

**Tabela II.** Zestawienie porównawcze wyników analizy statystycznej dla wartości MoM 1,215 i 1,5 w odniesieniu do wartości miana przeciwciał anty Rh – D i niedokrwistości u noworodków.

MoM	Miano przeciwciał w surowicy ciężarnych $\geq 1/8$ vs $\leq 1/4$		Noworodek z niedokrwistością vs bez niedokrwistości	
	1,215	1,5	1,215	1,5
Czułość (%)	52,1	17,4	100	20
Specyficzność (%)	100	100	66,7	88,5
Wartość prognostyczna pozytywna (%)	100	100	30,7	14,8
Wartość prognostyczna negatywna (%)	42,1	29,6	100	85,2
*p =	0,02	0,5	0,04	0,8

\*Istotność statystyczna w teście  $\chi^2$  z poprawką Yatesa

Moise potwierdził przydatność zastosowania wartości przepływów w MCA dla wielokrotności 1,5 mediany dla diagnozowania wskazań do pierwszej transfuzji dopłodowej w konflikcie Rh; wykazał równocześnie zbyt małą czułość tego badania jako wskazania do kolejnej transfuzji dopłodowej [20]. Badanie Moise sugeruje przyjęcie wartości 1,32 wielokrotności mediany jako wartości użytecznej do diagnozowania anemizacji płodu.

W przeprowadzonej przez nas analizie stwierdziliśmy, iż wartość 1,2 MoM MCA-PSV w sposób statystycznie istotny koreluje ze stwierdzaną niedokrwistością u noworodka. Potwierdza to uzyskana 100% czułość badania oraz wartość prognostyczna negatywna przy wykazanej specyficzności równej 66,7%. Przesunięcie punktu odcięcia wielokrotności mediany z 1,5 na 1,2 spowodowało 5-krotny wzrost czułości badania oraz 2-krotny wzrost specyficzności w stosunku do wartości odcięcia równej 1,5 mediany.

Gottval i wsp. w analizie dotyczącej 93 ciężarnych Rh ujemnych z mianem przeciwciał  $>1:16$  wykazali korelację miana  $<1:32$  oraz  $>1:1000$  w prognozowaniu niedokrwistości u noworodków. Stwierdzili również, że miano przeciwciał między 1:64 a 1:512 nie koreluje ściśle z ciężkością choroby hemolitycznej noworodków [5].

W naszych badaniach, przyjmując za piśmiennictwem wartość odcięcia 1,5 MoM dla PSV-MCA nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności ( $p=0,5$ ) pomiędzy wzrastającym mianem przeciwciał anty D a prędkością w MCA.

## Wnioski

W diagnostyce niedokrwistości u płodów w konflikcie serologicznym w zakresie czynnika Rh D należy rozważyć przyjęcie niższej wartości (1,215) MoM niż powszechnie przyjęta (1, 5).

Mała liczebność grupy własnej wymaga przeprowadzenia badań wielośrodkowych.

*Praca zgłoszona na XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Jakość życia kobiety - Salus feminae suprema lex esto” w dniach 16-19 września 2009 r. w Lublinie*

## Piśmiennictwo

- Biesiada L, Pietrzak Z, Szaflik K, [i wsp.]. Obstetrical results in women who underwent intrauterine invasive procedures during the pregnancy. *Ginekol Pol.* 2006, 77, 691-699.
- Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikaticul C [et al.]. Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2001, 184, 719-723.
- Brojer E, Żupanska B, Guz K, [et al.]. Noninvasive determination of fetal RHD status by examination of cell-free DNA in maternal plasma. *Transfusion.* 2005, 45, 1473-1480.
- Celewicz Z, Engel K, Ziętek M, [i wsp.]. Wykorzystanie współczesnych możliwości w diagnostyce konfliktu serologicznego – opis przypadku. *Klin Perin Gin.* 2006, 42, 67-69.
- Gottvall T, Hilden J. Concentration of anti-D antibodies in Rh(D) alloimmunized pregnant women, as a predictor of anemia and/or hiperbilirubinemia in their newborn infants. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1997, 76, 733-738.
- van Kamp I, Klumper F, Meermann R, [et al.]. Treatment of fetal anemia due to red-cell alloimmunisation with intrauterine transfusions in the Netherlands, 1988-1999. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004, 83, 731-737.
- Lo Y, Hjem N, Fidler C, [et al.]. Prenatal diagnosis of fetal Rh (D) status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med.* 1998, 339, 1734-1738.
- Van der Schoot C, Soussan A, Koelewijn J, [et al.]. Non-invasive antenatal RhD typing. *Transf Clin Biol.* 2006, 13, 53-57.
- Finning K, Martin P, Daniels G. The use of maternal plasma for prenatal RhD blood group genotyping. *Methods Mol Biol.* 2009, 496, 143-157.
- Lo Y, Corbetta N, Chamberlain P, [et al.]. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997, 350, 485-487.
- Zhong X, Burk M, Troeger C, [et al.]. Fluctuation of maternal and fetal free extracellular circulatory DNA in maternal plasma. *Obstet Gynecol.* 2000, 96, 991-996.
- Mari G, Deter R, Carpenter R, [et al.]. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunisation. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med.* 2000, 6, 342, 9-14.
- Eder A. Update on HDFN: new information on long-standing controversies. *Immunohematology.* 2006, 22, 188-195.
- Moise K. Management of rhesus alloimmunisation in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2008, 112, 1640-176.
- Selinger M. Immunoprophylaxis for rhesus disease- expensive but worth it? *Br J Obstet Gynaecol.* 1991, 98, 509-512.
- Dukler D, Oepkes D, Seaward G, [et al.]. Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing Doppler and ultrasound parameters. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188, 1310-1314.
- Mari G, Adirindon A, Abuhamad A, [et al.]. Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995, 5, 400-405.
- Mari G, Moise K, Deter R, [et al.]. Flow velocity waveforms of the vascular system in the anemic fetus before and after intravascular transfusion for severe red cell alloimmunisation. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 162, 1060-1064.
- Delle Chiaie L, Buck G, Grab D, [et al.]. Prediction of fetal anemia with Doppler measurement of middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by maternal blood group alloimmunisation or parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001, 18, 323-326.
- Moise K. The usefulness of middle cerebral artery Doppler assessment in the treatment of the fetus at risk for anemia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008, 198, 161 e1-4.
- Vyas S, Nicolaidis K, Campbell S. Doppler examination of the middle cerebral artery in anemic fetuses. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 162, 1066-1068.
- Teixeira J, Duncan K, Letsky E, [et al.]. Middle cerebral artery peak systolic velocity in the prediction of fetal anemia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000, 15, 205-208.